蝶と蛾 *Lepidoptera Science* **68**(3/4): 104–111, December 2017

オオムラサキ後翅肛角紋の色彩の遺伝解析―桃色型劣性遺伝子は存在する―

山本毅也

520-0826 滋賀県大津市鶴の里 3-9

Genetic analysis of the pink color form of hind wing anal angle spots in *Sasakia charonda* (Hewiton, 1863)

Takeya Yamamoto

3-9 Tsurunosato, Otsu, Shiga, 520-0826 Japan

Abstract Besides the red (normal) and white color forms of the hind wing anal angle spots in *Sasakia charonda*, there exists the pink color form. Through test crosses by the hand pairing method, this study demonstrates that the red and pink forms occur from different alleles of an autosomal gene, the former being dominant and the latter recessive. White and pink color forms are in incomplete dominance and the color of the hind wing anal spots in the F1 generation shows a color cline between white and pink.

Key words color cline, hind wing anal angle spot, multiple alleles, recessive gene, pink color form, *Sasakia charonda*, test cross.

はじめに

オオムラサキには翅裏面の地色が白色または黄色のノーマル型（図 1）と青白色または白色のスギタニ型（図 2）が存在する．これらの色彩はメンデル遺伝し，青白色または白色が黄色に対して劣性であることが知られている（川副ほか，1976，伊奈，2015）．後翅肛角紋の色彩はノーマル型では赤色（Red），スギタニ型で白色（White）の個体が多い．後翅肛角紋の色彩もメンデル遺伝し，白色は赤色に対して劣性であり，翅裏面の地色とは異なる遺伝子に制御されていることが知られている（伊奈，2015）．筆者はさらに後翅肛角紋が桃色（Pink）のオオムラサキが野外で発生したり飼育で羽化したりしていることに気づいていたが，赤色の微妙な変異の範囲内であろうとそれ以上は探求せずに現在に至った．

筆者らは 2014 年にブルーオオムラサキがメンデルの法則の劣性遺伝をすることに関する論文を発表した（Nagasaki *et al*., 2014）. 通常のオオムラサキは翅表面が紫色であるが，従来から滋賀県鈴鹿山地で青色の個体が極くまれに発生することが知られていて，以下この異常型をブルーオオムラサキと呼ぶことにした（図 1：5～12，図 2：5～8）．このなかでブルーの異常型が出現する遺伝形式を見極めるためにブルーオオムラサキ純系のノーマル型およびスギタニ型と新たに野外で得た幼虫から羽化したノーマル型との交配実験を計画した．なお，図 2：1～4 では和歌山県産のスギタニ型の写真を載せているが，ブルーオオムラサキのスギタニ型の純系の交配過程では滋賀県鈴鹿山地で採取した越冬幼虫から羽化したスギタニ型成虫を使用している．2010 年に鈴鹿山地で採取した幼虫 30 頭が翌年羽化したなかに後翅肛角紋が桃色の個体が 3 頭（♂2，♀1）混じっていた（図 2：9～12）．この Pink の後翅肛角紋とノーマル型の Red の後翅肛角紋を並べて比較観察した結果，両者には明らかに差があり Pink の形質には Red，White 以外の別の因子がはたらいているのではないかという疑問が沸いてきた．

材料および方法

筆者はブルーオオムラサキの遺伝子実験と並行して累代飼育による Pink 遺伝子の交配実験を今日まで続けてきた．従ってほとんどの実験材料はブルーオオムラサキを利用することになった．後翅肛角紋が Pink のオオムラサキはブルーオオムラサキの原産地の鈴鹿山地で採取したノーマル型の幼虫の中に含まれていたものである．オオムラサキの翅表の色彩の形質と後翅肛角紋の色彩の形質はメンデルの独立の法則があてはまり，実験結果は全てのオオムラサキに適応するものである．また 1，2，3 項の交雑実験で使用したスギタニ型はいずれも前年までに累代を繰り返してそれぞれホモ接合体であることを確認済みのものである．

オオムラサキは通常年 1 化で♂は 6 月初～下旬，♀は 6 月中～7 月中旬に羽化する．羽化した個体は室内で吊り下げ型のネットにグループ別に保管した．餌は筆者は約 10 倍に薄めたスポーツドリンクのポカリスエットをキッチンタオルに浸ませてネット上部に置いた．♂は交尾が可能になるまでには毎日最低 2，3 時間日光にあてることが必須で約 1 週間かかる．一方♀は羽化して翅脈が完全に固まれば

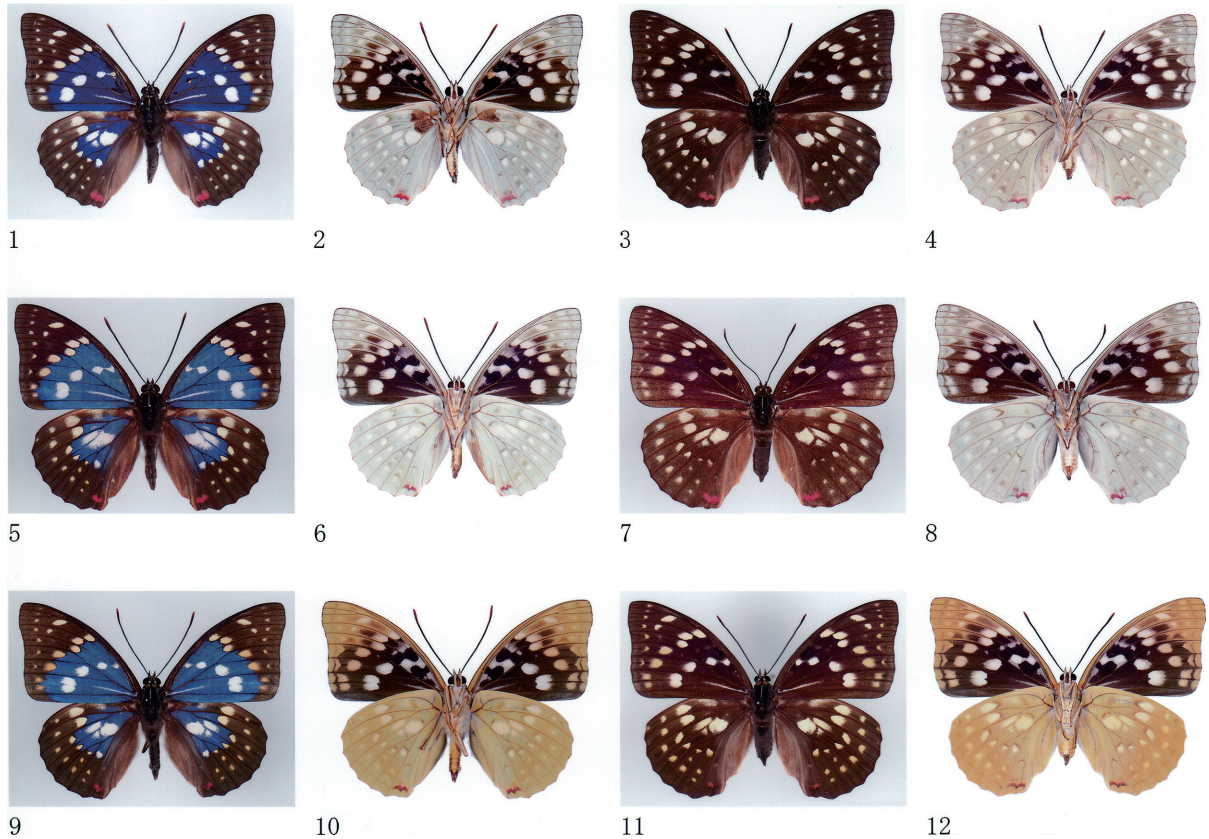



図 1.　肛角紋赤色型オオムラサキの種類
1：赤色型オオムラサキ（滋賀県鈴鹿山地産）♂翅表面，2：同裏面，2：♀翅表面，4：同裏面
5～8：ブルーオオムラサキ赤色型（滋賀県鈴鹿山地産）裏面白色
9～12：ブルーオオムラサキ赤色型（滋賀県鈴鹿山地産）裏面黄色

人工交配が可能（約 1 日）となる．オオムラサキのハンドペアリングは筆者が過去 30 年繰り返してきているので，現在では約 80％の成功率である．数～10 時間の交尾を終了してから♀は数日後にエノキの葉上に数十～百数十卵の卵塊を死ぬまで（約 3 週間）に何回かに分けて産卵する．孵化率は交配が成功していればほぼ 100％であるが，ときには無精卵の場合もある．約 10 日後幼虫は孵化し葉を食べ始め，11 月のエノキの落葉までに 4 令（地域によっては 3 令）に成長する．幼虫の体色が緑色から茶色に変わって越冬準備ができた幼虫はエノキの葉・枝から取り込んで予め落葉を入れて準備した植木鉢に移して冬期野外で保管する．一年間の飼育を通して最も難しいのが冬期保管で乾燥と湿潤に悩まされ生存率は約 70％である．遅くとも 4 月までには鉢に保管した越冬幼虫を再び種類毎にネットで分離したエノキの枝に幼虫を戻す．戻された茶色の幼虫は再び休眠に入り，2～3 週間後脱皮して緑色に戻った後給餌量が急に増え体長も大きくなり，5～6 月に 7 令（地域によっては 6 令）に達し前蛹を経て蛹化する．幼虫期間で重要なことはネット内ではアブラムシが必ず発生するので防止のためテントウムシを最低数匹入れて飼育することである．

本交配実験は 2010 年末の現地での幼虫採取から始まり，2016 年末まで 6 回の累代飼育を繰り返し，最終的に本論文で利用した成虫の数は約 250 頭であるが，卵の孵化率，幼虫期間の目減り率，羽化率等を含めると 1,000 頭以上の個体を要した．

結　果

1. ♂赤色型と♀白色型の交雑実験

オオムラサキの後翅肛角紋の赤色型（Red）と白色型（White）はメンデルの法則が成り立ち，それぞれの遺伝子をそれぞれ R，w とすると，R は優性，w は劣性の対立遺伝子であることが知られているので，確認のために下記の通りハンドペアリングによる交雑実験を行なった．

♂RR × ♀ww → Rw
Red　　White　　Red

ここで RR：Red 遺伝子のホモ接合体（赤色）

Rw：Red 遺伝子と White 遺伝子のヘテロ接合体（赤色）

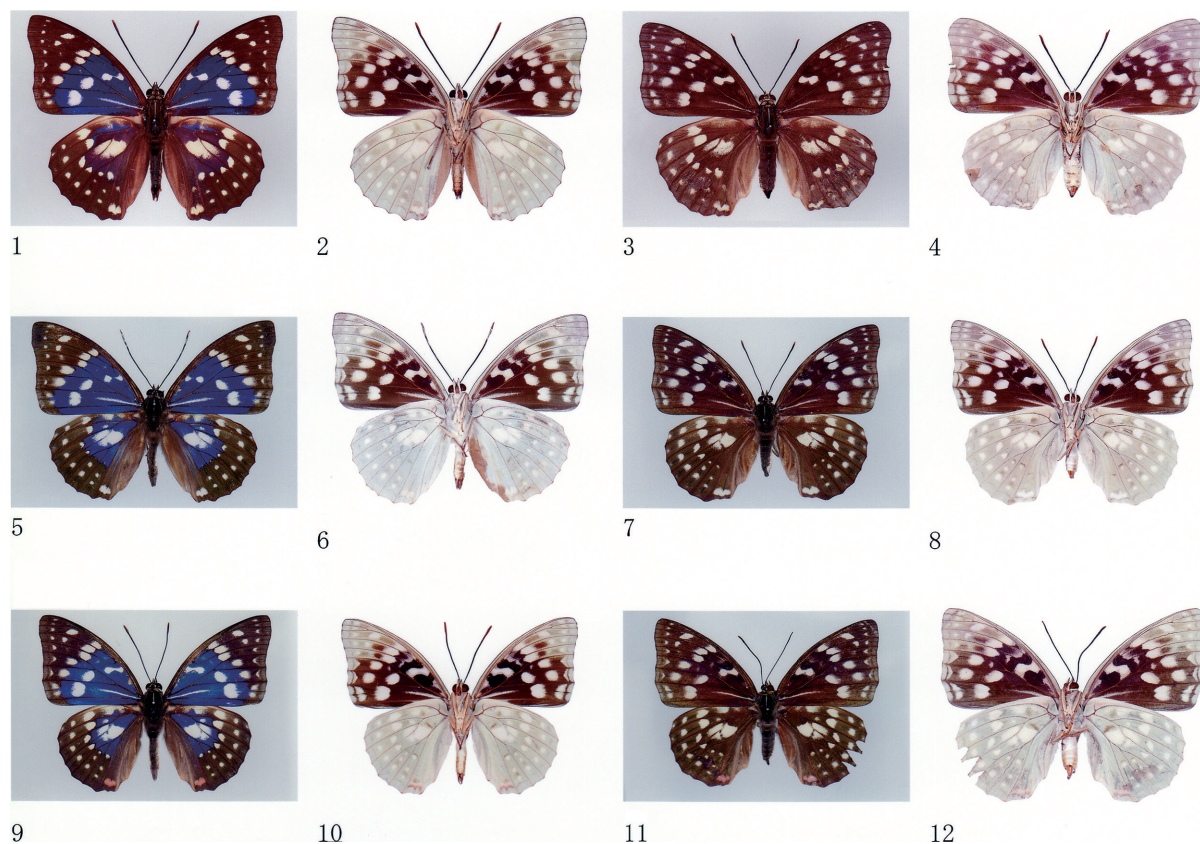



図 2. 肛角紋白色型および桃色型オオムラサキの種類
1：白色型オオムラサキ（和歌山県紀美野町産）♂翅表面 2：同裏面，3：♀翅表面，4：同裏面
5 〜 8：ブルーオオムラサキ白色型（滋賀県鈴鹿山地産）
9 〜 12：ブルーオオムラサキ桃色型（滋賀県鈴鹿山地産）

ww：White 遺伝子のホモ接合体（白色）

実験は 2011 年 7 月に交配し翌年♂7 頭，♀4 頭の第 2 世代が羽化したが肛角紋は全て Red であった．実験のデータ数は少ないものの，赤色が優性，白色が劣性であることに矛盾する結果は出ていない（表 1）．

表 1. 交配（♂RR × ♀ww）の羽化結果（2012）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
Rw（Red）	7	4	11
ww（White）	0	0	0
小計	7	4	11

引き続き 2012 年に羽化した第 2 世代のヘテロ接合体 Rw を 4 ペア交配し 2013 年に第 3 世代の羽化状況を確認した．

♂Rw × ♀Rw → RR + 2Rw + ww
Red Red Red Red White

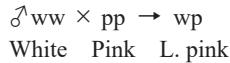
第 3 世代は♂28 頭，♀15 頭，計 43 頭が羽化し Red29 頭，White14 頭であった．メンデルの分離の法則では Red 対 White の比率は 3：1 であるが実験では 2.1：1 であった(表 2)．

表 2. 交配（♂Rw × ♀Rw）の羽化結果（2013）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
RR, Rw（Red）	18	11	29
ww（White）	10	4	14
小計	28	15	43

2. ♂白色型と♀桃色型（Pink）の検定交雑実験

2010 年冬に滋賀県鈴鹿山地で採取したオオムラサキ幼虫から翌年羽化した成虫の中に後翅肛角紋が Pink の♂♀が 3 頭いた．筆者は Red，White 以外に Pink のホモ接合体の遺伝子が存在するのではないかという仮説をたて，その形質が劣性でその遺伝子を p と仮定して，確認のため下記の検定交雑実験を実施した．

♂ww × pp → wp
White　Pink　L. pink

ここで ww：White 遺伝子のホモ接合体（白色，図 2：5〜8）

pp：Pink 遺伝子のホモ接合体（桃色，図 2：9〜12）

wp：Pink 遺伝子と White 遺伝子のヘテロ接合体（白と桃色の中間色）

Pink：表現型でホモ接合体 pp の形質（桃色）を仮称

L. pink（Light pink）：表現型でヘテロ接合体 pw の形質（薄桃色）を仮称．ホモ接合体 pp の Pink に近い L. pink 1 からホモ接合体 ww の White に近い L. pink 2 まで連続的に出現する

2012 年に羽化した第 2 世代のヘテロ接合体 wp の羽化状況を表 3 に示す．

表 3.　交配（♂ww ＋ ♀pp）の羽化結果　（2012）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
wp（L. pink 1）	2	1	3
（L. pink 2）	2	1	3
ww（White）	0	0	0
小計	4	2	6

この結果ヘテロ接合体 wp はどちらか一方の色に偏らず，中間色（Light pink）となったので p と w は不完全優性であることを示している．また実験のデータ数は少ないが White（白色型）の羽化がゼロであることから桃色型の親はホモ接合体 pp であったとの仮定とは矛盾しない．

引き続き 2012 年に羽化した第 2 世代ヘテロ接合体 wp どうしを交配し，2013 年に第 3 世代の羽化状況を確認した．

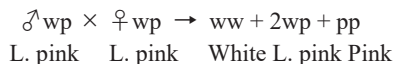
♂wp × ♀wp → ww + 2wp + pp
L. pink　L. pink　White L. pink Pink

この結果，ww：wp：pp が理論値 1：2：1 に対し 1：1.8：0.58 となった（表 4）．

表 4.　交配（♂wp ＋ ♀wp）の羽化結果（2013）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
pp（Pink）	3	4	7
wp（L. pink 1）	4	6	10
（L. pink 2）	9	2	12
ww（White）	9	4	12
小計	25	16	41

これは p と w が不完全優性であることを支持している．

ここでヘテロ接合体 wp の表現形式を Light pink として Pink に近いものを L. pink1, White に近いものを L. pink2 と分けているが色彩の判別は主観的なもので厳密ではない．またホモ接合体 pp に非常に近いヘテロ接合体 wp，ホモ接合体 ww に非常に近いヘテロ接合体 wp もあり，各表で正確に分類することは難しい．

3．♂桃色型と♀白色型の逆検定交雑実験

次に桃色型と白色型の♂♀を入れ替えて 2 と同様の実験を実施した．

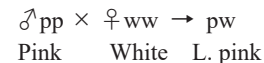
♂pp × ♀ww → pw
Pink　White　L. pink

2014 年に羽化した第 2 世代のヘテロ接合体 pw の羽化状況を表 5 に示す．

表 5.　交配（♂pp × ♀ww）の羽化結果（2014）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
pw（L. pink 1）	20	14	34
（L. pink 2）	3	1	4
ww（White）	0	0	0
小計	23	15	38

この結果，桃色型と白色型を♂♀入れ替えても第 2 項の実験と同様に第 2 世代ヘテロ接合体 pw は wp と同じく中間型（Light pink）になることが確認された．従って p 遺伝子は w 遺伝子同様に性別に影響されない常染色体（autosome）内に存在することがわかった．

また，羽化した成虫に白色型がゼロであったことにより今回使用した♂はヘテロ接合体ではなくホモ接合体 pp であることが検定された．

引き続き 2014 年に羽化した第 2 世代のヘテロ接合体 pw どうしを交配し第 3 世代の羽化状況を確認した．

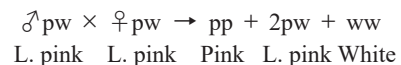
♂pw × ♀pw → pp ＋ 2pw ＋ ww
L. pink　L. pink　Pink　L. pink White

実験結果は表 6 に示すとおり，pp，pw，ww の発現比率は理論値が 1：2：1 であるが pp と pw の色の判別が難しいので（pp ＋ pw）：ww の発現比率で比較すると理論値が 3：1 に対し実験値は 4：1 であった（表 6）．本実験は母集団が小さいが矛盾する結果は出ていない．

表 6.　交配（♂pw × ♀pw）の羽化結果（2015）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
pp（Pink）	2	0	4
pw（L. pink 1）		2	
ww（White）	0	1	1
小計	2	3	5

同じく第 2 世代ヘテロ接合体 pw♂と白色型♀で検定交雑実験を行なった.

♂pw × ♀ww → pw ＋ ww
L. pink White L. pink White

ここで交配結果で白色型が羽化したことにより親の♂はホモ接合体 pp ではなくヘテロ接合体 pw であることが検定された．ここでは pw，ww の発現比率は理論値が 1：1 に対し実験値も 13：13 で理論値と一致した（表 7）.

表 7. 交配（♂pw + ♀ww）の羽化結果（2015）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
pw（L. pink 1）	2	0	2
（L. pink 2）	6	5	11
ww（White）	8	5	13
小計	16	10	26

4. 赤色型と桃色型の検定交雑実験

第 2 項で桃色型遺伝子 p と白色型遺伝子 w は不完全優性であることが判明したので，赤色型遺伝子 R は w と同様に p に対しても優性であるかを調べる実験を行なった.

すなわち R と p は対立遺伝子でメンデルの法則に従うとの仮定のもとで 2014 年に次の交配実験を 2 ペアで行なった.

♂RR × ♀pw → Rp ＋ Rw
Red L. pink Red Red

ヘテロ接合体 Rp は想定通りすべて Red となり，赤色型と白色型では遺伝子 R と w が互いに優性，劣性の対立遺伝子の関係があるのと同様に赤色型と桃色型でも遺伝子 R と p は互いに優性，劣性の対立遺伝子の関係があることが立証された（表 8）.

表 8. 交配（♂RR ＋ ♀pw）の羽化結果（2015）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
Rp, Rw（Red）	28	22	50
pw（L. pink）	0	0	0
ww（White）	0	0	0
小計	28	22	50

次に第 2 世代どうしの交配実験を行なった．交配パターンは次の 3 通りがある.

♂Rp × ♀Rp → RR ＋ 2Rp ＋ pp
Red Red Red Red Pink

♂Rp × ♀Rw → RR ＋ Rp ＋ Rw ＋ pw
Red Red Red Red Red L. pink

♂Rw × ♀Rw → RR＋2Rw＋ww
Red Red Red Red White

すなわちこの第二世代（赤色）をランダムに交配した場合の表現型の割合の期待値は，Red：Pink：L. pink：White ＝ 9：1：1：1 になる．実験では交配した 5 頭の♀を同一ネット内で飼育し産卵させたところ，2016 年に羽化した第三世代個体の後翅肛角紋の色彩の割合は表 9 のとおりであった.

表 9. 交配（♂Rp ＋ ♀Rp, ♂Rp ＋ ♀Rw or ♂Rw ＋ ♀Rw）の羽化結果（2016）

後翅肛角紋の色	♂	♀	小計
RR, Rp, Rw（Red）	10	7	17
pp（Pink）	0	1	1
pw（L. pink）	1	2	3
ww（White）	6	1	7
小計	17	11	28

交配数は 5 ペアで期待値に比べて極端に少ないため表現型形質の出現比率は 9：0.53：1.6：3.7 となり大きくずれているが，4 色共に羽化していることにより交配に用いた 5 ペアのなかに前述の 3 パターンが全て含まれていたことがわかった.

考 察

伊奈（2015）では桃色型遺伝子の存在を仮定せず，Red と Pink をまとめて White に対して優性としている．すなわち同論文の赤色父蝶 1987-12-7 の兄妹に Pink がいることから（伊奈論文 p136，表 5-22），著者はヘテロ接合体 Rp ♂とホモ接合体 ww♀を交配したのかもしれない．同様に 1987-13-21 の兄妹に Pink がいることから（表 5-23），ヘテロ接合体 Rw ではなく，ヘテロ接合体 pw♂とホモ接合体 ww♀を交配したのかもしれない（伊奈，2015）.

筆者の p 対立遺伝子の存在を認めた本研究結果では，p 遺伝子を導入することにより，伊奈論文の交配実験結果のうち，第一世代か次世代に Pink がホモ接合体 pp かヘテロ接合体または Rp に含まれる場合は，全て合理的な説明がつくことがわかった.

遺伝子 p は遺伝子 w と不完全優性の関係にあり，またどちらも遺伝子 R に対し劣性の複対立遺伝子である．ヘテロ接合体 pw の間では Pink と White との中間色（Light pink）となる.

さらにヘテロ接合体 pw の Pink と White の中間色（L. pink）は図 3 に示すように Pink に近い L. pink 1 から White に近い L. pink 2 まで連続的に発現しているように思われる（color cline）．その中間色の Pink と White の混合割合はホモ接合体 pp と ww の形質発現の条件によるものと考えられるが現時点では解明に至っていない．Color cline の例

図 3.　p 遺伝子（Pink），w 遺伝子（White）の各ホモ接合体とヘテロ接合体 pw の肛角紋の Color Cline
1：♂ホモ接合体 pp（2016），2：同肛角紋色彩 Pink, 3：♀ホモ接合体 pp（2016），4：同肛角紋色彩 Pink
5 ～ 8：♂♀ヘテロ接合体 pw（2016），同肛角紋：Light pink 1
9 ～ 12：♂♀ヘテロ接合体 pw（2015），同肛角紋：Light pink 1
13 ～ 16：♂♀ヘテロ接合体 pw（2015），同肛角紋：Light pink 2
17 ～ 20：♂♀ヘテロ接合体 pw（2015），同肛角紋：Light pink 2
21 ～ 24：♂♀ホモ接合体 ww（2016），同肛角紋：White

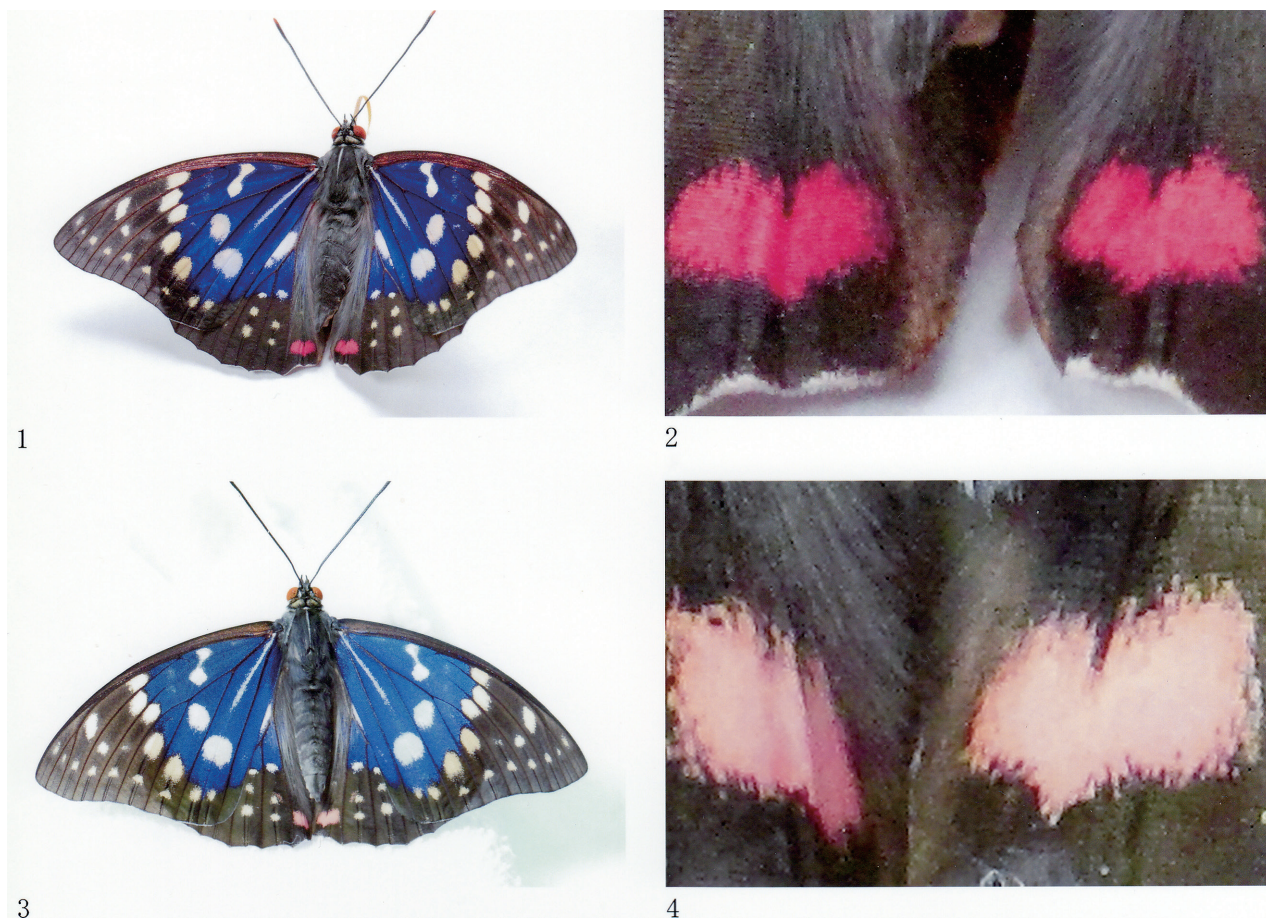



図 4. ブルーオオムラサキ後翅肛角紋の赤色型と桃色型の色彩の比較
1：赤色型♂ホモ接合体 RR（2017），2：同肛角紋色彩 Red
3：桃色型♂ホモ接合体 pp（2017），4：同肛角紋色彩 Pink

としてはウスバシロチョウの翅表の白から黒に至る連続的な変化があり，翅色にかかわる遺伝子は複数存在し，個体の遺伝子と環境因子にかかわる遺伝子の発現量の違いによって決まるとされる（八木，2013．小野，2015）．

オオムラサキのヘテロ接合体 pw の後翅肛角紋の色彩の発現では同じ親から生まれた多くの子（第 2 世代）のヘテロ接合体の色合いが一定ではなくそれぞれ異なること，過去 6 年間同じ場所でほぼ同一環境で累代飼育を繰り返してきたことでウスバシロチョウの事例とは異なる内部因子がはたらいているものと考えられる．今後その解明に注力したい．

また図 4 にブルーオオムラサキの赤色型と同桃色型の後翅肛角紋の色彩を比較している．写真は撮影の角度や照明の条件により色具合は大きく影響を受けるが Red と Pink の色彩に明瞭な違いがあることがわかる．

結　論

1. オオムラサキの後翅肛角紋の色彩には赤色型（Red）と白色型（White）以外に桃色型（Pink）が存在する．

2. 桃色型遺伝子 p は白色型遺伝子 w と不完全優性の関係にあり，またどちらも赤色型遺伝子 R に対し劣性の複対立遺伝子である．

3. 表現型が性別に影響されないことから R，p，w 対立遺伝子は常染色体に存在すると考えられる．

4. p 遺伝子と w 遺伝子のヘテロ接合体 pw は Pink から White に至るさまざまな中間色が発現する（color cline）．中間色がいかなる条件で決定されるかは不明である．

謝　辞

今回の研究は 2014 年にブルーオオムラサキがメンデルの法則の劣性遺伝をすることに関する論文を発表したが，筆者は 2009 年からその研究グループに参加し，累代飼育実験を続けていくなかで 2011 年に Pink の肛角紋の存在に気づき，ブルーオオムラサキの実験と並行して累代実験を開始したもので，このグループに参加していなければ本研究は成立していなかった．この間リーダの長崎二三夫氏・共著者の北方健作氏・脇坂昇氏には種々の協力をいただいた．

六峰義弘氏には累代飼育で，また高石清治氏には標本・斑紋の写真撮影及び和文校正で多大の協力を得た．琵琶湖博物館の Dr Mark J. Grygier 上席総括学芸員には本稿の英文校正に関しお世話をいただいた．

以上の方々のご指導･ご協力に心からの感謝を申し上げる．

引用文献

川副昭人，若林守雄（著），白水　隆（監修），1976. 原色日本蝶類図鑑，265 pp.，pl. 58. 保育社，大阪.

Nagasaki, F., T. Yamamoto, K. Kitakata, N. Wakisaka, 2014. Breeding evidence for Mendelian recessive transmission in an aberrant blue form of *Sasakia charonda*. *Lepid. Sci.* **65**: 5-16.

阪本寧男，1995. メンデルの法則. 黒田行昭編，基礎遺伝学. 207pp.　裳華房，東京.

八木孝司，2013.　チョウの斑紋の遺伝学.　昆虫と自然 **48**(3): 2-23.

八木孝司，2015.　チョウの斑紋の遺伝学.　190pp.　八木孝司編，チョウの斑紋形成の生物学.　pp. 7-34.　大阪公立大学共同出版会，大阪.

伊奈　紘，2015.　オオムラサキの斑紋変異と遺伝.　八木孝司編，チョウの斑紋形成の生物学.　pp. 113-150.　大阪公立大学共同出版会，大阪.

小野克己・寺　章夫，2015.　ウスバシロチョウの斑紋変異.　八木孝司編，チョウの斑紋形成の生物学.　pp. 151-176.　大阪公立大学共同出版会，大阪.

Summary

Red, white and pink color forms of anal angle spots in hind wings are inheritable traits of *Sasakia charonda*. It was previously shown that red and white forms occur from different alleles of a single autosomal gene, the former being dominant and the latter recessive. This study demonstrates through test crosses by the hand pairing method that the red and pink color forms also occur from different alleles of the same gene, the former being dominant and the latter recessive. The alleles for the white and pink forms represent incomplete dominance and the color of their heterozygotes shows a cline between white and pink. The mechanism regulating the color cline is not yet elucidated at this moment.

（Received January 21, 2017. Accepted November 8, 2017）